



TITLE:

薬物排泄機構の遺伝子多型解析に基づく医薬品相互作用・動態個体間変動評価法の基盤構築

AUTHOR(S):

乾, 賢一

CITATION:

乾, 賢一. 薬物排泄機構の遺伝子多型解析に基づく医薬品相互作用・動態個体間変動評価法の基盤構築. 2004

ISSUE DATE:

2004-05

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/79545>

RIGHT:

p.16-268は学術雑誌掲載論文の抜き刷り、出版社に著作権許諾が得られていないため未掲載。

薬物腎排泄機構の遺伝子多型解析に基づく
医薬品相互作用・動態個体間変動評価法の基盤構築

(課題番号 13307068)

平成13年度～平成15年度科学研究費補助金（基盤研究 (A)(2)）

研究成果報告書

平成16年5月

研究代表者 乾 賢 一

(京都大学大学院医学研究科教授)

目 次

課題番号・研究課題・研究組織・交付決定額.....	1
研究の背景・目的.....	2
研究成果	
1. <i>in vitro</i> 薬物排泄機能発現系の再構築.....	2
2. ヒト腎における薬物トランスポータの発現プロファイルと尿細管分布.....	4
3. 薬物トランスポータの SNP 解析.....	4
4. 腎疾患時における薬物トランスポータの発現変動と薬物体内動態との相関...	5
総 括	6
研究発表	
(1) 学会誌等	7
(2) 口頭発表 (国際学会・シンポジウム)	12
(3) 出版物.....	14
研究成果による工業所有権の出願・取得状況.....	15

平成 13 年度～15 年度科学研究費補助金（基盤研究(A)(2)）
研究成果報告書

課題番号 13307068

研究課題 薬物腎排泄機構の遺伝子多型解析に基づく医薬品相互作用・
動態個体間変動評価法の基盤構築

研究組織

研究代表者：乾 賢一（京都大学大学院医学研究科教授）
研究分担者：奥田真弘（京都大学大学院医学研究科助教授）
研究分担者：桂 敏也（京都大学大学院医学研究科講師）
研究分担者：増田智先（京都大学大学院医学研究科助手）
研究分担者：本橋秀之（京都大学大学院医学研究科助手）
研究分担者：寺田智祐（京都大学大学院医学研究科助手）

交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 13 年度	20,600	6,180	26,780
平成 14 年度	8,700	2,610	11,310
平成 15 年度	7,900	2,370	10,270
総 計	37,200	11,160	48,360

【研究の背景・目的】

生体の免疫システムが生体内に侵入した高分子性異物に対する生体防御機構として機能しているのに対し、異物処理臓器に発現する生体膜輸送システム（薬物トランスポータ）は、医薬品や劇・毒物等の低分子性異物及び代謝老廃物を体外へ排除する役割を担っている。我々は、これまで膜小胞系や培養細胞系を用いた薬物輸送研究によって、薬物の尿細管分泌にトランスポータが深く関与していることを実証してきた（Clin. Exp. Nephrol., 2, 100, 1998）。さらに分子生物学的手法を用いて、種々薬物トランスポータの cDNA を単離し、各トランスポータの輸送機能特性や臓器分布などを明らかにしてきた（Kidney Int., 58, 944-958, 2000）。

一方、薬理遺伝学や薬理ゲノミクスの進展によって、薬効・薬物動態関連遺伝子の genotyping に基づいた個別化薬物療法の概念が臨床の現場において浸透しつつある。薬物トランスポータは、薬物代謝酵素と共に薬物動態個体間変動因子になり得ることが想定されてきたが、薬物代謝酵素に比べて薬物トランスポータの遺伝子多型情報は極めて少なく、医薬品体内動態・相互作用における個人差にどのような影響を及ぼしているのか不明の点が多かった。

このような背景のもと、本研究では、腎臓に発現するヒト型薬物排泄トランスポータ群の実体を遺伝子レベルで同定し、*in vitro* 薬物排泄機能発現系の再構築による薬物相互作用予測システムの技術的・理論的基盤構築を目指した。並行して、薬物トランスポータのヒト組織における発現量解析や一塩基多型情報の収集と変異トランスポータの機能解析を実施した。またモデル動物や腎不全患者における、種々薬物トランスポータの発現や機能変動について精査した。得られた薬物トランスポータの遺伝子情報や発現情報と薬物体内動態パラメータとの相関解析を行い、薬物動態個体間変動評価法の確立を最終目標とした。

【研究成果】

1. *in vitro* 薬物排泄機能発現系の再構築

腎尿細管には複数種の薬物トランスポータが発現し、効率的な異物・薬物の尿中排泄を媒介している。一般に、血液中の薬物は腎尿細管側底膜に局在する有機アニオンまたは有機カチオントランスポータの媒介により、上皮細胞内へ取り込まれ、刷子縁膜に局在するトランスポータによって管腔中へ分泌される（図 1）。これら種々薬物トランスポータ群の *in vitro* 発現系を用いて、薬物輸送の機能評価を行った。

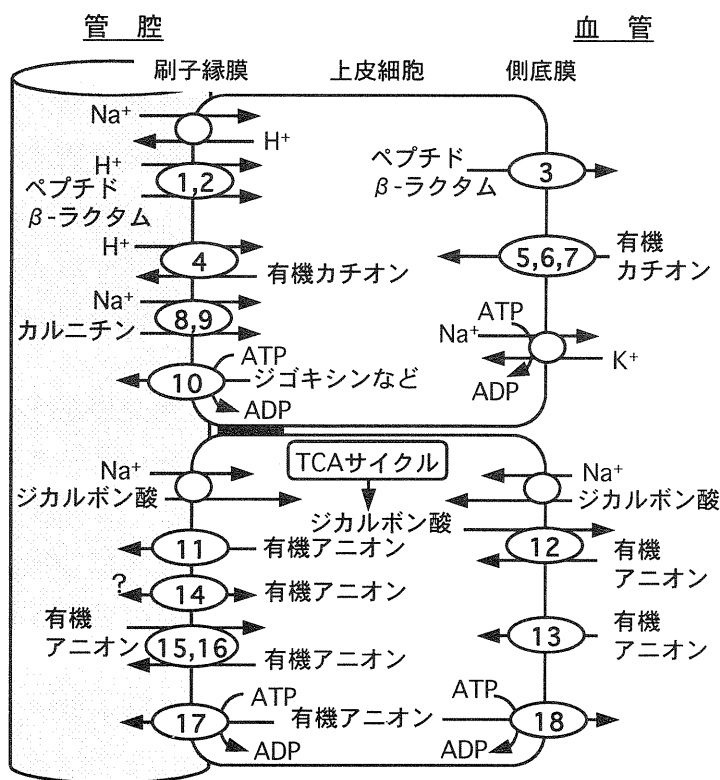


図 1.
腎薬物トランスポータ
1, PEPT1; 2, PEPT2; 3, 側底膜型ペプチドトランスポータ; 4, H⁺/有機カチオンアンチポータ; 5, OCT1; 6, OCT2; 7, OCT3; 8, OCTN1; 9, OCTN2; 10, P-糖タンパク質; 11, PAH トランスポータ; 12, OAT1; 13, OAT3; 14, OAT4; 15, OAT-K1 (rat); 16, OAT-K2 (rat); 17, MRP2/cMOAT; 18, MRP1

1-1. 有機カチオン及び有機アニオントランスポータの機能解析

有機カチオントランスポータ群では、OCT1、OCT2 の詳細な基質特異性、基質親和性を明らかにするとともに、糸球体濾過量のバイオマーカーとして用いられているクレアチニンが hOCT2 によって輸送されることを初めて実証した。また OCT1 や OCT2 と相同性を有する OCTN2 は、Na⁺依存性カルニチントランスポータとして機能しており、H⁺/有機カチオントランスポータの分子の実体ではないことを証明した。有機アニオントランスポータ群では、OAT-K1、OAT-K2 の基質特異性を解明するとともに、β-ラクタム抗生物質の肝腎振り分けに OAT1 が一部関与していること、またジゴキシンとアミオダロンの薬物相互作用には腎 MDR1 よりもむしろ、肝 oatp2 が主に関与していることなどを明らかにした。

1-2. 新規腎特異的トランスポータの遺伝子同定と機能解析

ヒト腎 cDNA ライブラリーより、hOCT2 及び hOCT2-A cDNA の単離に成功した。hOCT2-A は 483 個のアミノ酸から構成され、hOCT2 と 81% のアミノ酸相同性を有し、両者とも腎特異的に発現していることが分かった。hOCT2-A と hOCT2 は同じ染色体上に位置し、hOCT2-A は hOCT2 のスプライシングバリエーションであることが判明した。基質特異性、輸送の駆動力は両トランスポータで類似していたものの、hOCT2-A は hOCT2 に比べて高い基質親和性を有することがわかった。

また、正常並びに腎不全モデルラットより cDNA ライブラリーを作成し、ランダムシーケンス法を用いて腎臓の mRNA データベースを構築した。データマイニング並びに発現クローニングを行い、新規 Na⁺依存性グルコーストランスポータ (NaGLT1) の遺伝子単離に成功した。従って、本データベースは腎臓に発現する実体未知の薬物トランスポータの単離において、強力なツールになりうることが示唆された。

2. ヒト腎における薬物トランスポータの発現プロファイルと尿細管分布

腎疾患及び腎・尿管腫瘍などの疾患を有する患者から得られた正常腎組織を用いて、種々薬物トランスポータ群の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法によって定量した。検討した有機カチオントランスポータ群では、hOCT2 mRNA の発現量が最も高く hOCT1 の発現は認められなかった。この結果は、特異抗体を用いた検討からも確認された。新規有機カチオントランスポータ hOCT2-A の mRNA 発現量は hOCT2 の約 1/10 であった。一方、有機アニオントランスポータ群の中では、hOAT3 mRNA の発現量が最も高く、次いで hOAT1 であった。ATP 駆動型トランスポータ群ではジゴキシン等の腎排泄に関わる MDR1 の発現量が最も高く、続いてアニオン性薬物やグルクロン酸抱合体を輸送する MRP1 であった。

高発現を示した hOCT2、hOAT1 及び hOAT3 について、連続腎切片を用いて免疫染色を行ったところ、これらのトランスポータは全て近位尿細管側底膜に局在し、同一の上皮細胞に発現することが判明した。なお、本研究を実施するにあたり、「腎に発現する薬物輸送体の発現量定量と遺伝子解析に関する臨床研究」という題目で、京都大学医学研究科・医学部医の倫理委員会より平成 12 年 8 月 23 日に承認書が交付されている。さらに平成 13 年 3 月 29 日の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、実施期間を遡って再度承認申請し、平成 14 年 11 月 20 日付けで承認書が交付されている。

3. 薬物トランスポータの SNP 解析

3-1. OCT1 及び PEPT2 の SNP とその機能解析

hOCT1 cSNP (P283L、R287G、P341L) の機能解析を行ったところ、P283L 及び R287G の変異により hOCT1 の TEA 輸送活性はほぼ完全に消失した。また P341L の変異により TEA 輸送活性が wild type の約 60%に低下した。また、ペプチド類似薬物の腎再吸収に関与しているペプチドトランスポータ (hPEPT2) の cSNP (R57H、P409S) について調べたところ、P409S 変異体では wild type と同程度の輸送活性が認められたものの、R57H 変異体ではほぼ完全に輸送活性が消失していた。Western blot 解析や免疫染色法によって、変異体はタンパクとして細胞膜上に発現している

ことが確認された。従って、これら SNP による OCT1 や PEPT2 の輸送機能低下は、トランスポータタンパクの細胞膜局在化の異常によるものではなく、輸送機能障害または基質認識異常によるものと推察された。しかし検討した SNP の日本人における発現頻度は少なく、個体間変動因子として機能している可能性は低いことが示唆された。

3-2. 腎 MDR1 発現に及ぼす SNP の影響

腎腫瘍患者由来の正常腎組織を用い、MDR1 遺伝子多型と腎組織における MDR1 mRNA 発現レベルについて検討した。10 箇所 MDR1 遺伝子多型についてアレル頻度を中心に調べたところ、これまでの日本人における報告とほぼ類似した結果が得られた。しかし、MDR1 mRNA 発現量と MDR1 遺伝子多型との相関は認められなかった。従って、日本人において MDR1 遺伝子の SNP は MDR1 mRNA 発現量に影響を及ぼさないことが示唆された。

4. 腎疾患時における薬物トランスポータの発現変動と薬物体内動態との相関

4-1. モデル動物を用いた解析

ヒトにおける腎不全モデル動物として繁用されている 5/6 腎摘出ラットを用い、腎不全の進展に伴う種々薬物トランスポータの分子的・機能的変動を精査した。5/6 腎摘出 2 週間後の腎では、OAT-K1、OAT-K2、OCT2 の mRNA レベルは顕著に低下するのに対して、PEPT2 の mRNA レベルは上昇することがわかった。アニオン性抗癌剤メトトレキサート (MTX) 並びにカチオン性 H₂ ブロッカーシメチジンをを用いて、*in vivo* 体内動態実験を行ったところ、両薬物の腎クリアランスは 5/6 腎摘出群で対象模擬処置群の 20%にまで低下することがわかった。さらに模擬処置群では、フォリン酸投与による MTX の尿中排泄促進効果が認められたのに対し、5/6 腎摘出群では観察されなかった。同時に、5/6 腎摘出ラットに微量のテストステロンを負荷したところ、OCT2 の発現の回復とシメチジンのクリアランスの再上昇が認められ、腎不全に伴うカチオン性薬物の腎排泄能低下には、一部血清テストステロン濃度の低下に起因する OCT2 発現低下によることが示唆された。一方、mRNA の発現上昇が認められた PEPT2 では、Western blot 解析によるタンパク発現解析、並びに腎刷子縁膜小胞を用いたジペプチド輸送の解析でも対応した結果が得られた。また、高尿酸血症モデルラットを作成し、有機イオントランスポータ群の発現変動を調べたところ、OAT1、OAT3、OCT2 の著しい低下が認められた。またこれらトランスポータの発現低下と対応して、PAH、MTX、シメチジンの腎クリアランスが減少していた。以上、腎機能低下時においては、各薬物トランスポータの発現変動に伴った薬物体内動態や輸送機能の変動が認められたことから、本成果は薬物トラン

スポートの発現量変動を基盤とした合理的な薬物投与設計構築のための有用な基礎的情報になりうることが示唆された。

4-2. 腎不全患者における解析

病理診断を目的として腎生検が施行された患者の余剰組織検体（42 症例）を用いて、薬物トランスポータ mRNA 発現量を定量した。その結果、腎疾患患者では、hOAT1 の発現量が正常腎皮質と比較して有意に低下していることが明らかになった。また hOAT3 の発現量も低下傾向を示すものの、hOAT2 や hOAT4 の発現量は上昇傾向を示しており、腎疾患時において薬物トランスポータの発現変動は一様ではないことが判明した。

腎生検が施行された後、感染症予防を目的として抗生物質セファゾリンが投与される。1 時間の定速静注直後とさらに 1 時間経過後の血中濃度を測定することによって体内消失速度を算出し、有機イオントランスポータ発現量との相関解析を行った。その結果、検討した有機イオントランスポータファミリーのうち、hOAT3 の発現量がセファゾリンの消失速度と有意な正の相関を示した。また、*in vitro* 発現系を用いた検討より、hOAT3 はセファゾリンを輸送することが確認された。従って、ヒトにおいても腎薬物トランスポータの発現変動に関する情報が、薬物腎排泄の予測と至適薬剤投与設計法確立に有用であることが示唆された。

【総 括】

本研究において、新たに遺伝子単離した腎特異的トランスポータ hOCT2-A 並びに NaGLT1 を含む、多様な腎トランスポータの機能特性を明らかにした。さらに、それぞれのトランスポータのヒト腎における mRNA プロファイルを作成するとともに、腎臓における膜局在を同定した。hOCT1 や hPEPT2 において機能変化を引き起こす cSNP を見出した。またモデル動物や腎不全患者を対象にした、腎薬物トランスポータ発現量と薬物体内動態の相関解析より、腎薬物トランスポータ発現量が薬物の腎排泄能を規定する因子となり得ることが判明した。

今後、ヒト型薬物トランスポータ群の発現量に影響を及ぼすと考えられる rSNP や iSNP などの遺伝情報に加えて、加齢・病態・臓器障害時における発現変動のメカニズム、発現制御に関わる転写因子等の探索、輸送機能に及ぼす細胞内外の環境変化など、個人差をもたらす遺伝的・分子的・環境的要因の網羅的解析を行うことによって、ヒト薬物トランスポータ群の薬物体内動態個体間変動因子としての役割が明らかになり、テーラーメイド薬物療法の実践へと発展することが期待される。

【研究発表】

(1) 学会誌等 (番号 **bold** 体は別刷添付)

[Reviews]

1. Katsura, T. and Inui, K.: Intestinal absorption of drugs mediated by drug transporters: mechanisms and regulation. **Drug Metab. Pharmacokin.**, 18(1), 1-15 (2003)
2. Masuda, S.: Functional characteristics and pharmacokinetic significance of kidney-specific organic anion transporters, OAT-K1 and OAT-K2, in the urinary excretion of anionic drugs. **Drug Metab. Pharmacokin.**, 18(2), 91-103 (2003)
3. Ishikawa, T., Tsuji, A., Inui, K., Sai, Y., Anzai, N., Wada, M., Endou, H. and Sumino, Y.: The genetic polymorphism of drug transporters: functional analysis approaches. **Pharmacogenomics**, 5(1), 67-99 (2004)
4. Terada, T. and Inui, K.: Peptide transporters: structure, function, regulation and application for drug delivery. **Curr. Drug Metab.**, 5(1), 85-94 (2004)

[Original Articles]

5. Kodawara, T., Yano, I., Masuda, S., Ito, T., Wakasugi, H., Futami, T., Hashimoto, Y., Saito, H. and Inui, K.: Interaction of azole antifungal agents with human P-glycoprotein expressed in a kidney epithelial cell line, LLC-PK₁. **Xenobio. Metabol. and Dispos.**, 16(1), 5-11 (2001)
6. Irie, M., Terada, T., Sawada, K., Saito, H. and Inui, K.: Recognition and transport characteristics of nonpeptidic compounds by basolateral peptide transporter in Caco-2 cells. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 298(2), 711-717 (2001)
7. Motohashi, H., Masuda, S., Katsura, T., Saito, H., Sakamoto, S., Uemoto, S., Tanaka, K. and Inui, K.: Expression of peptide transporter following intestinal transplantation in the rat. **J. Surg. Res.**, 99(2), 294-300 (2001)
8. Ohnishi, S., Saito, H., Fukada, A. and Inui, K.: Independent organic cation transport activity of Na⁺-L-carnitine cotransport system in LLC-PK₁ cells. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, 281(2), F273-F279 (2001)
9. Matsuo, Y., Yano, I., Habu, Y., Katsura, T., Hashimoto, Y. and Inui, K.: Transport of levofloxacin in the OK kidney epithelial cell line: interaction with *p*-aminohippurate transport. **Pharm. Res.**, 18(5), 573-578 (2001)
10. Hashida, T., Masuda, S., Uemoto, S., Saito, H., Tanaka, K. and Inui, K.: Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDR1 expression in recipients of living-donor liver transplantation. **Clin. Pharmacol. Ther.**, 69(5), 308-316 (2001)
11. Motohashi, H., Katsura, T., Saito, H. and Inui, K.: Effects of tacrolimus and

- cyclosporin A on peptide transporter PEPT1 in Caco-2 cells. **Pharm. Res.**, 18(5), 713-717 (2001)
12. Takeuchi, A., Masuda, S., Saito, H., Doi, T. and Inui, K.: Role of kidney-specific organic anion transporters in the urinary excretion of methotrexate. **Kidney Int.**, 60(3), 1058-1068 (2001)
 13. Takeuchi, A., Masuda, S., Saito, H., Abe, T. and Inui, K.: Multispecific substrate recognition of kidney-specific organic anion transporters OAT-K1 and OAT-K2. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 299(1), 261-267 (2001)
 14. Fukatsu, S., Yano, I., Igarashi, T., Hashida, T., Takayanagi, K., Saito, H., Uemoto, S., Kiuchi, T., Tanaka, K. and Inui, K.: Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult recipients receiving living-donor liver transplantation. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, 57(6-7), 479-484 (2001)
 15. Sawada, K., Terada, T., Saito, H. and Inui, K.: Distinct transport characteristics of basolateral peptide transporters between MDCK and Caco-2 cells. **Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.**, 443(1), 31-37 (2001)
 16. Yamaguchi, H., Yano, I., Saito, H. and Inui, K.: Transport characteristics of grepafloxacin and levofloxacin in the human intestinal cell line Caco-2. **Eur. J. Pharmacol.**, 431(3), 297-303 (2001)
 17. Takahashi, K., Masuda, S., Nakamura, N., Saito, H., Futami, T., Doi, T. and Inui, K.: Upregulation of H⁺-peptide cotransporter PEPT2 in rat remnant kidney. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, 281(6), F1109-F1116 (2001)
 18. Urakami, Y., Okuda, M., Masuda, S., Akazawa, M., Saito, H. and Inui, K.: Distinct characteristics of organic cation transporters, OCT1 and OCT2, in the basolateral membrane of renal tubules. **Pharm. Res.**, 18(11), 1528-1534 (2001)
 19. Yamaguchi, H., Yano, I., Saito, H. and Inui, K.: Pharmacokinetic role of P-glycoprotein in oral bioavailability and intestinal secretion of grepafloxacin *in vivo*. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 300(3), 1063-1069 (2002)
 20. Okabe, H., Yano, I., Hashimoto, Y., Saito, H. and Inui, K.: Evaluation of increased bioavailability of tacrolimus in rats with experimental renal dysfunction. **J. Pharm. Pharmacol.**, 54(1), 65-70 (2002)
 21. Ashida, K., Katsura, T., Motohashi, H., Saito, H. and Inui, K.: Thyroid hormone regulates the activity and expression of the peptide transporter PEPT1 in Caco-2 cells. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, 282(4), G617-G623 (2002)
 22. Shimomura, M., Masuda, S., Saito, H., Sakamoto, S., Uemoto, S., Tanaka, K. and Inui, K.: Roles of the jejunum and ileum in the first-pass effect as absorptive barriers for orally administered tacrolimus. **J. Surg. Res.**, 103(2), 215-222 (2002)
 23. Motohashi, H., Sakurai, Y., Saito, H., Masuda, S., Urakami, Y., Goto, M., Fukatsu, A.,

- Ogawa, O. and Inui, K.: Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in the human kidney. **J. Am. Soc. Nephrol.**, 13(4), 866-874 (2002)
24. Uwai, Y., Saito, H. and Inui, K.: Rat renal organic anion transporter rOAT1 mediates transport of urinary-excreted cephalosporins, but not of biliary-excreted cefoperazone. **Drug Metabol. Pharmacokin.**, 17(2), 125-129 (2002)
 25. Kodawara, T., Masuda, S., Wakasugi, H., Uwai, Y., Futami, T., Saito, H., Abe, T. and Inui, K.: Organic anion transporter oatp2-mediated interaction between digoxin and amiodarone in the rat liver. **Pharm. Res.**, 19(6), 738-743 (2002)
 26. Ji, L., Masuda, S., Saito, H. and Inui, K.: Down-regulation of rat organic cation transporter rOCT2 by 5/6 nephrectomy. **Kidney Int.**, 16(2), 514-524 (2002)
 27. Fukada, A., Saito, H. and Inui, K.: Transport mechanisms of nicotine across the human intestinal epithelial cell line Caco-2. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 302(2), 532-538 (2002)
 28. Goto, M., Masuda, S., Saito, H., Uemoto, S., Kiuchi, T., Tanaka, K. and Inui, K.: C3435T polymorphism in the *MDR1* gene affects the enterocyte expression level of CYP3A4 rather than Pgp in recipients of living-donor liver transplantation. **Pharmacogenetics**, 12(6), 451-457 (2002)
 29. Urakami, Y., Akazawa, M., Saito, H., Okuda, M. and Inui, K.: cDNA cloning, functional characterization, and tissue distribution of an alternatively spliced variant of organic cation transporter hOCT2 predominantly expressed in the human kidney. **J. Am. Soc. Nephrol.**, 13(7), 1703-1710 (2002)
 30. Shiiki, T., Hashimoto, Y. and Inui, K.: Simulation for population pharmacodynamic analysis of dose-ranging trials: usefulness of the mixture model analysis for detecting nonresponders. **Pharm. Res.**, 19(6), 909-913 (2002)
 31. Pan, X., Terada, T., Irie, M., Saito, H. and Inui, K.: Diurnal rhythm of H⁺-peptide cotransporter in rat small intestine. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, 283(1), G57-G64 (2002)
 32. Jiko, M., Yano, I., Wakasugi, H., Saito, H. and Inui, K.: Evaluation of pharmacokinetic interaction between cyclosporin A and probucol in rats. **Pharm. Res.**, 19(9), 1362-1367 (2002)
 33. Habu, Y., Yano, I., Hashimoto, Y., Saito, H. and Inui, K.: *p*-Aminohippurate transport at the apical membrane in the OK kidney epithelial cell line. **Pharm. Res.**, 19(12), 1822-1826 (2002)
 34. Fukada, A., Saito, H., Urakami, Y., Okuda, M. and Inui, K.: Involvement of specific transport system of renal basolateral membranes in distribution of nicotine in rats. **Drug Metabol. Pharmacokin.**, 17(6), 554-560 (2002)
 35. Ohnishi, S., Saito, H., Fukada, A. and Inui, K.: Distinct transport activity of

- tetraethylammonium from L-carnitine in rat renal brush-border membranes. **Biochim. Biophys. Acta**, 1609(2), 218-224 (2003)
36. Horiba, N., Masuda, S., Takeuchi, A., Takeuchi, D., Okuda, M. and Inui, K.: Cloning and characterization of a novel Na⁺-dependent glucose transporter NaGLT1 in rat kidney. **J. Biol. Chem.**, 278(17), 14669-14676 (2003)
 37. Goto, M., Masuda, S., Saito, H. and Inui, K.: Decreased expression of P-glycoprotein during differentiation in human intestinal cell line Caco-2. **Biochem. Pharmacol.**, 66(1), 163-170 (2003)
 38. Horiba, N., Masuda, S., Ohnishi, C., Takeuchi, D., Okuda, M. and Inui, K.: Na⁺-dependent fructose transport via rNaGLT1 in rat kidney. **FEBS Lett.**, 546(2-3), 276-280 (2003)
 39. Okamura, M., Terada, T., Katsura, T., Saito, H. and Inui, K.: Inhibitory effect of zinc on PEPT1-mediated transport of glycylsarcosine and β -lactam antibiotics in human intestinal cell line Caco-2. **Pharm. Res.**, 20(9), 1389-1393 (2003)
 40. Habu, Y., Yano, I., Takeuchi, A., Saito, H., Okuda, M., Fukatsu, A., Inui, K.: Decreased activity of basolateral organic ion transports in hyperuricemic rat kidney: Roles of organic ion transporters, rOAT1, rOAT3 and rOCT2. **Biochem. Pharmacol.**, 66(6), 1107-1114 (2003)
 41. Masuda, S., Goto, M., Kiuchi, T., Uemoto, S., Kodawara, T., Saito, H., Tanaka, K. and Inui, K.: Enhanced expression of enterocyte P-glycoprotein depresses cyclosporine bioavailability in a recipient of living-donor liver transplantation. **Liver Transpl.**, 9(10), 1108-1113 (2003)
 42. Fukudo, M., Yano, I., Fukatsu, S., Saito, H., Uemoto, S., Kiuchi, T., Tanaka, K. and Inui, K.: Forecasting of blood tacrolimus concentrations based on the Bayesian method in adult patients receiving living-donor liver transplantation. **Clin. Pharmacokinet.**, 42(13), 1161-1178 (2003)
 43. Pan, X., Terada, T., Okuda, M. and Inui, K.: Altered diurnal rhythm of intestinal peptide transporter by fasting and its effect on the pharmacokinetics of ceftibuten. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 307(2), 626-632 (2003)
 44. Igarashi, T., Yano, I., Saito, H. and Inui, K.: Decreased cyclosporin A concentrations in the absorption phase using microemulsion preconcentrate formulation in rats with cisplatin-induced acute renal failure. **Biol. Pharm. Bull.**, 26(11), 1591-1595 (2003)
 45. Takeuchi, A., Motohashi, H., Okuda, M. and Inui, K.: Decreased function of genetic variants, Pro283Leu and Arg287Gly, in human organic cation transporter *hOCT1*. **Drug Metab. Pharmacokin.**, 18(6), 409-412 (2003)
 46. Sakurai, Y., Motohashi, H., Ueo, H., Masuda, S., Saito, H., Okuda, M., Mori, N., Matsuura, M., Doi, T., Fukatsu, A., Ogawa, O. and Inui, K.: Expression levels of renal

- organic anion transporters (OATs) and their correlation with anionic drug excretion in patients with renal diseases. **Pharm. Res.**, 21(1), 61-67 (2004)
47. Yamaguchi, H., Yano, I., Saito, H. and Inui, K.: Effect of cisplatin-induced acute renal failure on bioavailability and intestinal secretion of quinolone antibacterial drugs in rats. **Pharm. Res.**, 21(2), 330-338 (2004)
 48. Uwai, Y., Masuda, S., Goto, M., Motohashi, H., Saito, H., Okuda, M., Nakamura, E., Ito, N., Ogawa, O. and Inui, K.: Common single nucleotide polymorphisms of *MDR1* gene have no influence on its mRNA expression level of normal kidney cortex and renal cell carcinoma in Japanese nephrectomized patients. **J. Hum. Genet.**, 49(1), 40-45 (2004)
 49. Terada, T., Irie, M., Okuda, M. and Inui, K.: Genetic variant Arg57His in human H⁺/peptide cotransporter 2 causes a complete loss of transport function. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 316(2), 416-420 (2004)
 50. Nakamura, N., Masuda, S., Takahashi, K., Saito, H., Okuda, M. and Inui K.: Decreased expression of glucose and peptide transporters in rat remnant kidney. **Drug Metab. Pharmacokin.**, 19(2), 41-47 (2004)
 51. Mikkaichi, T., Suzuki, T., Onogawa, T., Tanemoto, M., Mizutamari, H., Okada, M., Chaki, T., Masuda, S., Tokui, T., Eto, N., Abe, M., Satoh, F., Unno, M., Hishinuma, T., Inui, K., Ito, S., Goto, J. and Abe, T.: Isolation and characterization of a digoxin transporter and its rat homologue expressed in the kidney. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, 101(10), 3569-3574 (2004)
 52. Masuda, S., Uemoto, S., Goto, M., Fujimoto, Y., Tanaka, K. and Inui, K.: Tacrolimus therapy according to mucosal MDR1 levels in small bowel transplant recipients. **Clin. Pharmacol. Ther.**, 75(4), 352-361 (2004)
 53. Takahashi, K., Motohashi, H., Yonezawa, A., Okuda, M., Ito, N., Yamamoto, S., Ogawa, O. and Inui, K.: Elevated tacrolimus blood concentration by lansoprazole in a transplant recipient. **Ann. Pharmacother.**, 38(5), 791-794 (2004)
 54. Ashida, K., Katsura, T., Saito, H. and Inui, K.: Decreased activity and expression of intestinal oligopeptide transporter PEPT1 in rats with hyperthyroidism *in vivo*. **Pharm. Res.**, 21(6), 975-981 (2004)
 55. Urakami, Y., Kimura, N., Okuda, M. and Inui, K.: Creatinine transport by basolateral organic cation transporter hOCT2 in the human kidney. **Pharm. Res.**, 21(6), 982-987 (2004)
 56. Horiba, N., Masuda, S., Takeuchi, A., Saito, H., Okuda, M. and Inui K.: Gene expression variance based on random sequencing in rat remnant kidney. **Kidney Int.**, in press.
 57. Onoue, M., Terada, T., Okuda, M., Fujimoto, K., Doi, R., Imamura, M. and Inui, K.:

Surgical resection deteriorates gemcitabine-induced leucopenia in pancreatic cancer. **Int. J. Clin. Oncol.**, in press.

58. Goto, M., Masuda, S., Kiuchi, T., Ogura, Y., Oike, F., Okuda, M., Tanaka, K. and Inui, K.: *CYP3A5*1*-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. **Pharmacogenetics**, in press.

(2) 口頭発表 (国際学会・シンポジウム)

1. Terada, T., Irie, M., Saito, H., and Inui, K. Recognition and transport characteristics of nonpeptidic compounds by basolateral peptide transporter in the human intestinal cell line Caco-2. EUFAPS World Conference on Drug Absorption and Drug Delivery (June 2001, Denmark)
2. 乾 賢一. 臓器移植における免疫抑制剤の適正使用と遺伝子情報. CBI 学会 2001: 特別講演 (2001 年 7 月、東京)
3. Takeuchi, A., Masuda, S., Saito, H., and Inui, K. Role of kidney specific organic anion transporters, OAT-K1 and OAT-K2, in methotrexate-folinic acid rescue therapy. 2nd International Research Conference, PharmaConference 2001 (August 2001, Switzerland)
4. 増田智先. 腎局在性有機アニオン輸送体の構造・機能と薬物動態学的意義に関する研究. 第 16 回日本薬物動態学会年会: 奨励賞受賞講演 (2001 年 10 月、神戸)
5. 乾 賢一. 薬物トランスポータ研究の新展開: From Bench to Bedside. 第 16 回日本薬物動態学会年会 (2001 年 10 月、神戸)
6. 乾 賢一、齋藤秀之. 薬物トランスポータ群の構造・機能解析とオーダーメイド医療への応用. 第 23 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (2001 年 11 月、熊本)
7. 増田智先、乾 賢一. 臓器移植患者におけるタクロリムス体内動態の個人差と小腸 P-糖蛋白質発現. 日本薬学会第 122 年会: シンポジウム 7「消化管における薬物代謝・排出輸送系とその機能修飾分子～薬物の消化管吸収との関連性～」 (2002 年 3 月、千葉)
8. Inui, K. Rational dosage regimen of tacrolimus and genetic information in organ transplantation. The 1st Korea-Japan Joint Symposium on Drug Delivery and Therapy (April 2002, Korea)
9. Inui, K. Physiological and pathophysiological roles of organic ion transporters in the

- kidney. The 14th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations
10. Inui, K. Basolateral peptide transporters in intestinal and renal epithelial cells. International Meeting "TRANSPORTER2002" (September 2002, Germany)
 11. 浦上裕美子. 薬物腎移行に関わる有機カチオントランスポータ (OCT) の分子的多様性. 第 52 回日本薬学会近畿支部総会・大会: 支部奨励賞受賞講演 (2002 年 10 月、大阪)
 12. 乾 賢一. トランスポータ研究の薬物動態解析への応用と臨床展開. 第 17 回日本薬物動態学会年会: 学会賞受賞講演 (2002 年 11 月、東京)
 13. 齋藤秀之、増田智先、本橋秀之、浦上裕美子、上井優一、桂 敏也、奥田真弘、乾 賢一. 腎尿細管薬物トランスポータの構造・機能解析と臨床的意義. 第 17 回日本薬物動態学会年会: シンポジウム主題 2 「創薬パラダイムシフト下における Pharmacokinetics, transporter, drug delivery 研究」 (2002 年 11 月、東京)
 14. Saito, H. Molecular aspect and physiological implications of organic ion transporters. Molecular Biopharmaceutics: A new era in drug absorption transport and delivery (January 2003, Honolulu)
 15. 乾 賢一、寺田智祐. ペプチドトランスポーターとドラッグデリバリー. 日本薬学会第 123 年会: シンポジウム 10 「ペプチド・タンパク質の生体膜透過機構とその改善」 (2003 年 3 月、長崎)
 16. 乾 賢一. 医療薬学の科学的基盤構築に向けて: From Bench to Bedside. 日本薬剤学会第 18 年会: 年会長講演 (2003 年 4 月、京都)
 17. 乾 賢一. 薬物トランスポータ研究の新しい展開: From Bench to Bedside. 日本膜学会第 25 年会: 特別講演 (2003 年 5 月、東京)
 18. 乾 賢一. 臓器移植患者のテーラーメイド免疫抑制療法. 第 10 回 HAB 研究機構学術年会: 特別講演 (2003 年 5 月、東京)
 19. Horiba, N., Masuda, S., Takeuchi, A., Takeuchi, D., Okuda, M. and Inui, K. cDNA cloning and functional characteristics of a novel Na⁺-dependent glucose transporter NaGLT1 in rat kidney. World Congress of Nephrology 2003 (June 2003, German)
 20. Motohashi, H., Sakurai, Y., Ueo, H., Masuda, S., Okuda, M., Saito, H., Fukatsu, A., Ogawa, O., Doi, T. and Inui, K. Expression levels of organic anion transporters and their correlation with urinary excretion of anionic drugs in patients with renal disease. World Congress of Nephrology 2003 (June 2003, German)
 21. Goto, M., Masuda, S., Omae, T., Shimomura, M., Okuda, M. and Inui, K. The expressional variation of enterocyte MDR1: in vivo and in vitro analyses. PharmaConference 2003 (August 2003, Switzerland)

22. Horiba, N., Masuda, S., Takeuchi, A., Onichi, C., Okuda, M. and Inui, K. Identification of a novel low-affinity Na^+ -dependent glucose/fructose transporter NaGLT1. PharmaConference 2003 (August 2003, Switzerland)
23. 増田智先、後藤真樹、橋田 亨、田中紘一、乾 賢一. 個別化免疫抑制両方を目指した *MDR1* 遺伝子情報の臨床応用. 第 18 回日本薬物動態学会年会：シンポジウム 2A「臨床応用を目指した薬理遺伝学～どの病気の、どの薬物治療か～」(2003 年 10 月、札幌)
24. 増田智先、後藤真樹、橋田 亨、奥田真弘、乾 賢一. トランスポータの機能、発現に基づく医薬品の適正使用：小腸移植患者におけるタクロリムス投与設計. 第 25 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム：特別企画 1「膜タンパク質の動的機能と発現制御」(2003 年 11 月、金沢)
25. Horiba, N., Masuda, S., Takeuchi, A., Takeuchi, D., Okuda, M. and Inui, K. A novel glucose transporter NaGLT1 mediates low-affinity Na^+ -dependent uptake of fructose as well as glucose in rat kidney. Renal Week 2003 -American Society of Nephrology-(November 2003, San Diego)
26. 乾 賢一. 腎薬物トランスポータの機能・発現並びに疾患と SNP 解析. ファルマスニップコンソーシアム (PSC) 共同研究講演会 (2003 年 12 月、東京)
27. Inui, K. Clinical implications of drug transporters: Immunosuppressive therapy in liver transplantation. The International Symposium on Metabolism and Membrane Transport in Drug Discovery and Development (February 2004, Tokyo)
28. Terada, T., Irie, M., Okuda, M. and Inui, K. Simulation of transepithelial transport of glycylsarcosine by intestinal peptide transporters. Kyoto University International Symposium on "Leading Project for Biosimulation" (February 2004, Kyoto)
29. 増田智先、乾 賢一. 薬物動態制御因子群の遺伝子解析を中心としたテラーマイド免疫抑制療法. 日本薬学会第 124 年会：シンポジウム 25「ゲノム情報・テクノロジーの創薬への展開」(2004 年 3 月、大阪)

(3) 出版物

1. 齋藤秀之、乾 賢一：腎疾患患者への医薬品投与時の注意：薬物代謝面から. 薬物代謝からみた肝・腎・心疾患患者への医薬品投与時の注意，中野眞汎 編，53-66，医薬ジャーナル社 (2001)
2. 矢野育子，乾 賢一：薬の働きと副作用 “薬の事典”，宮崎利夫，朝長文彌 編集，97-112，朝倉書店 (2001)
3. 寺田智祐，乾 賢一：ペプチドトランスポーター. Annual Review 腎臓 2002，

伊藤克己、浅野 泰、遠藤 仁、御手洗哲也、東原英二 編, 27-34, 中外医学社 (2002)

4. 栗津莊司、川島嘉明、乾 賢一総編集: 最新薬剂学 (第8版), 廣川書店 (2002)
5. 桂 敏也、乾 賢一: 吸収から排泄まで. 看護のための最新医学講座第28巻: 薬物療法, 日野原重明、井村裕夫 監修、安原真人 編, 6-16, 中山書店 (2002)
6. 乾 賢一、土井俊夫 編著: 改訂腎機能別薬剂使用マニュアル, じほう (2003)
7. 乾 賢一: 腎排泄 (renal excretion) : 尿中への排泄. 臨床薬理学 (第2版), 中野重行、安原 一、中野眞汎編, 152-156, 医学書院 (2003)
8. 若杉博子、乾 賢一: 循環器薬剂の特性、服薬指導. ナースのための循環器科、米田正始 編, 268-275, 284-295, メディカ出版 (2003)

【研究成果による工業所有権の出願・取得状況】

特許権の出願・公開状況

1. ヒト腎臓に発現する有機カチオントランスポータ hOCT2-A とその遺伝子 (特開: 2003-250576) 平成 15 年 9 月 9 日公開
2. グルコーストランスポータ NaGLT1 及びその遺伝子 (特願: 2002-363014) 平成 14 年 12 月 13 日出願
3. グルコーストランスポータ及び／又はフルクトーストランスポータ NaGLT1 及びその遺伝子 (PCT/JP03/15418) (国際特許) 平成 15 年 12 月 12 日出願